

# A Ocratoxina A na Vitivinicultura Europeia

Armando Venâncio

Centro de Engenharia Biológica, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057

Braga, Portugal

(E-mail: [avenan@deb.uminho.pt](mailto:avenan@deb.uminho.pt))

## Resumo

Os fungos filamentosos são agentes biológicos responsáveis por grandes perdas económicas no sector agrícola, quer por uma via directa, pela sua proliferação no alimento, quer por uma via indirecta, pela síntese de compostos indesejáveis no alimento. De entre os fungos filamentosos presentes na Natureza destacam-se os fungos produtores de compostos tóxicos (micotoxinas). Tal como os fungos filamentosos, a presença de micotoxinas também deve ser encarada como natural. Estas sempre estiveram presentes em géneros alimentícios de origem agrícola e, não sendo possível eliminar a sua ocorrência, resta ao Homem controlar ou minimizar a sua presença.

A relação entre os fungos e as uvas é longa e complexa mas, recentemente, novos factos trazidos a público vieram introduzir um novo elemento a esta relação – as micotoxinas. Desde a descoberta da primeira micotoxina, na década de 60 do século passado, que se vem pesquisando estes compostos em uvas, tendo já sido referida (ou especulada) a presença de algumas micotoxinas em uvas e/ou vinho; contudo, apenas duas – a ocratoxina A e a patulina – suscitaram alguma preocupação junto das autoridades competentes.

Hoje, sabe-se que a patulina ocorre nas uvas, mas é degradada aquando da fermentação alcoólica, gerando produtos fermentados, isto é, o vinho, livres desta micotoxina. Sobre a ocratoxina A, sabe-se que ocorre em uvas e que é parcialmente eliminada durante a vinificação, podendo assim ocorrer em vinhos. Contudo, a incidência da OTA em uvas não se encontra generalizada, a sua ocorrência está dependente da presença de fungos filamentosos produtores nas uvas e de condições climáticas favoráveis. Estas condições favoráveis parecem existir ao longo da bacia do Mar Mediterrâneo, i.e., sul da Europa e norte de África, zona onde a maior incidência de OTA em vinhos tem sido observada.

## A Micoflora e as Micotoxinas

Os fungos filamentosos são microrganismos ubíquos na Natureza, sendo, como tal, encarada com naturalidade a sua presença em produtos agrícolas. Estes microrganismos são, em geral, capazes de produzir uma grande variedade de metabolitos secundários. Tal como o fungo, os seus metabolitos são considerados produtos naturais e, alguns, são mesmo vitais para o fungo produtor (*e.g.*, as melaninas que protegem contra a irradiação solar ou outros agentes agressores). Contudo, embora natural, nem sempre a presença dos fungos e/ou dos seus metabolitos é desejável. Estes agentes biológicos são

responsáveis por grandes perdas económicas, quer por uma via directa, pela sua proliferação no alimento, quer por uma via indirecta, pela síntese de compostos indesejáveis no alimento. De entre os fungos filamentosos presentes na Natureza podem destacar-se, pelo impacto que podem causar para a saúde pública, os fungos produtores de metabolitos com propriedades tóxicas, isto é, as micotoxinas.

## **As Micoflora e a Vitivinicultura**

A relação entre os fungos e a videira (ou a uva) é longa e complexa. Como exemplos clássicos deste binómio pode referir-se a produção de polifenol oxidases (mais conhecida na área vitivinícola por lacase) nas uvas por *Botrytis cinerea*, ou, ainda, o oídio (*Uncula necator*) na videira. Ambos estes fungos pertencem ao filo Ascomycota.

Mas, recentemente, um novo elemento veio juntar-se a esta relação – as micotoxinas. Desde a descoberta da primeira micotoxina, na década de 60 do século passado, que se vem pesquisando estes compostos em uvas. Conforme referido anteriormente, estando os fungos filamentosos presentes naturalmente no ambiente e sendo estes produtores de inúmeros compostos naturais (entre os quais alguns tóxicos para animais), a presença de micotoxinas em uva, como em qualquer outra matriz, deve ocorrer. Mais, esta ocorrência deve ser encarada como natural, competindo ao Homem providenciar a minimização da ocorrência.

Em uvas, nos últimos 40 anos, foi já referida (ou especulada) a presença de patulina (Scott et al. 1977), de aflatoxinas (Takahashi, 1977a, 1977b), de tricotecenos (Schwenk et al. 1989), de ocratoxina A (Zimmerli e Dick, 1995) e de toxinas de *Alternaria* (Lau et al, 2003) em uvas ou vinhos. A maior parte destas ameaças não foram consideradas relevantes, em termos de segurança sanitária de alimentos, mas duas – a ocratoxina A (OTA) e a patulina – suscitaram alguma preocupação junto das autoridades europeias competentes. Fora do campo da segurança sanitária, em termos organolépticos, a presença de tricotecenos de *Trichotecium roseum* (a podridão rosa) pode interferir com a fermentação alcoólica e provocar o surgimento de odores e sabores estranhos no vinho (Schwenk et al. 1989).

A patulina é uma micotoxina usualmente (mas não exclusivamente) associada a maçãs e seus derivados, sendo o seu produtor mais comum o *Penicillium expansum* (Brian et al. 1956). A sua ocorrência em uvas encontra-se bem documentada, estando a sua presença em alimentos (predominantemente frutos e seus derivados) regulamentada em pelo menos 33 países (Magan e Olsen, 2004). Contudo, esta micotoxina é transformada pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, durante a fermentação alcoólica, num composto menos tóxico, não sendo encontrada com tanta frequência, nem em tanta quantidade, em derivados de fruta fermentados, como os casos do vinho e da cidra. Se no caso de vinhos, a patulina não suscita qualquer preocupação, já na produção de sumo de uva a patulina deve ser identificada com um perigo e o seu risco deve ser avaliado com rigor.

A ocratoxina A é uma micotoxina habitualmente associada a *Penicillium verrucosum*, em regiões de clima temperado, e a *Aspergillus ochraceus*, em regiões de clima tropical (Cerdeira et al, 2003). Contudo, rastreios efectuados na Europa (e confirmados noutros zonas do globo) revelam que em uvas a presença de OTA se deve predominantemente a estirpes de *Aspergillus* negros (*Aspergillus carbonarius* e, em menor proporção, ao agregado de *A. niger*) (Serra et al, 2003). A incidência da OTA em uvas não se encontra generalizada, a sua ocorrência está dependente não só da presença dos fungos filamentosos produtores nas uvas, como também de outros factores ainda não devidamente esclarecidos, para os quais devem contribuir as condições edafo-climáticas, os tratamentos fitossanitários ou, ainda, o próprio momento da infecção.

(Battilani et al, 2003; Serra et al, 2006). Estas condições favoráveis parecem existir ao longo da bacia do Mar Mediterrâneo, i.e., sul da Europa e norte de África, zona onde a maior incidência de estirpes de *Aspergillus* negros em uvas tem sido referenciada.

## **A Ocratoxina A e a Vitivinicultura**

Diferentes tipos de vinho apresentam níveis de contaminação distintos, sendo a presença de OTA em vinhos brancos menos frequente (e em menores concentrações) que em vinhos rosés e nestes, por sua vez, menos frequente que em vinhos tintos. Por fim, em vinhos doces a frequência e os teores de OTA são ainda maiores. A origem geográfica do vinho também parece ter influência, exibindo os vinhos oriundos do sul da Europa e norte de África maiores concentrações de OTA que os oriundos de zonas a norte, seguindo a mesma tendência observada na distribuição dos fungos ocratoxigénicos.

Regra geral, admite-se que a contaminação dos vinhos com OTA é feita antes da fermentação, pois considera-se que as condições anaeróbias que se geram nesta fase não favorecem o crescimento de fungos filamentosos. A produção da OTA é vista como um fenómeno ligado à vinha e às uvas, sendo nesta lógica de pensamento que se considera que a distribuição geográfica da OTA nos vinhos é devida à incidência mais elevada de *A. carbonarius* nas vinhas de climas mediterrânicos que em climas temperados. A maior incidência deste fungo na vinha pode, ainda, justificar a maior incidência de OTA em vinhos doces. Os vinhos doces naturais, desenvolvidos na baía do mediterrâneo, desde a época clássica, dependem da concentração de açúcares nas uvas antes da fermentação. Nesta categoria, estão muitos vinhos italianos (e.g., vin santo e recioto della Valpolicella). Para concentrar os açúcares, as uvas são deixadas a secar na vinha ou em esteiras após a colheita. Este passo facilita a invasão por *Aspergillus* negros, pois no processo de secagem, as películas sofrem pequenos danos e fissuras, ficando mais vulneráveis à infecção. O vinho do Porto é um vinho doce fortificado, com um processo de fabrico distinto destes outros vinhos doces. As uvas são colhidas e fermentadas, mas antes da fermentação estar concluída é adicionada aguardente vínica. O açúcar residual não fermentado é o que confere doçura ao vinho, não estando envolvido qualquer processo de concentração prévio de açúcares; além do mais, as películas estão pouco tempo em contacto com o mosto. Até à data, não se registaram elevados níveis de contaminação neste tipo de vinho (Ratola et al. 2004).

A relação entre a OTA e os tipos de vinho branco, rosé e tinto, parece prender-se com os processos de vinificação. Na vinificação, um dos primeiros passos consiste no esmagamento das uvas, para libertação do mosto das películas. Nesta operação a OTA fica predominantemente associada às películas (Fernandes et al. 2003). Na produção de vinhos brancos, o mosto é separado das películas antes da fermentação, o que diminui o tempo de contacto entre as películas e o mosto. Pelo contrário, na fermentação dos vinhos tintos, o mosto e as películas fermentam em conjunto, para permitir a extracção de compostos corados e aromas. Esta operação permite a passagem da micotoxina presente nas películas para o mosto, contribuindo para os níveis de OTA mais elevados observados nos vinhos tintos (Fernandes et al. 2006).

Ao longo do processo de vinificação observa-se a remoção parcial de OTA. Esta micotoxina adsorve a partículas em suspensão no mosto e no vinho, sendo a OTA removida por esta via sempre que ocorrem etapas de clarificação e de separação sólido-líquido. Ensaios de vinificação conduzidos em estações experimentais demonstram que a quantidade de OTA presente no vinho representa cerca de 8% da quantidade inicial na uva. Contudo, durante o processo geram-se uma série de produtos secundários (borras, películas, ...) com teores de OTA bastante elevados (Fernandes et al. 2006).

## Conclusão: A Ocratoxina A na Europa

Na Europa, a avaliação da presença de OTA em uvas e vinho passou por (i) um rastreio rigoroso à micoflora das uvas; (ii) a verificação da capacidade para esta micoflora produzir OTA; (iii) um rastreio à presença de OTA em uvas com o acompanhamento da sua evolução durante a maturação da uva; e, (iv) por fim, pela avaliação do comportamento da OTA durante a vinificação.

Foi possível constatar que os géneros *Aspergillus* e *Penicillium* se encontram entre os 5 mais abundantes nas uvas; no entanto, as espécies produtoras de OTA pertencem exclusivamente ao género *Aspergillus*. *Aspergillus carbonarius* surge como a espécie produtora de OTA nas regiões vitivinícolas europeias, seguida do agregado *A. niger*. Ambas estas espécies pertencem ao grupo dos *Aspergillus* negros. Esporadicamente são isoladas estirpes de *A. ochraceus*. O número total de estirpes produtores de OTA cresce significativamente com a maturação das uvas, atingindo-se o máximo no momento da vindima (Serra et al, 2005). Na produção de vinhos doces, a partir de uvas sobreamadurecidas, esta observação pode justificar a maior incidência de OTA nestes vinhos. Contudo, esta maior incidência de fungos ocratoxigénicos nem sempre se repercute num aumento dos teores de OTA.

Durante a vinificação, observou-se uma diminuição dos teores de OTA nas várias correntes de mosto/vinho, desde o esmagamento até ao engarrafamento. Esta diminuição deve-se, predominantemente, à remoção de OTA por adsorção a sólidos suspensos, que vão sendo eliminados ao longo da vinificação. A remoção de OTA por adsorção a sólidos durante a vinificação, resulta na obtenção de alguns produtos secundários (e.g., películas, borras) com elevados teores de OTA.

## Referências

- Battilani, P., Giorni, P. e Pietri, A. (2003) *Eur. J. Plant Pathol.* 109, 715-722.
- Brian, P.W., Elson, G.W. e Lowe, D. (1956) *Nature* 178, 263-264
- Cerdeira A., Venâncio A., Alves A., Barros P. e Tomás Simões (2003) *Impacto da contaminação fúngica sobre a competitividade de vinhos – ocratoxina A*, Micoteca da Universidade do Minho, Braga, 100 páginas (ISBN: 972-97916-2-7).
- Lau, B. P., Scott, P.M., Lewis, D.A., Kanhere, S.R., Cleroux, C. e Roscoe, V. (2003) *J. Chromatogr A* 998, 119-131
- Magan, N. e Olsen, M. (2004) *Mycotoxins in Foods: detection and control*. Woodhead Publishing Ltd, 471 páginas
- Schwenk, S., Altmayer, B. e Eichhorn, K.W. (1989) *Z Lebensm Unters Forsch* 188, 527-530
- Scott, P.M., Fuleki, T. e Harwig, J. (1977) *J. Agric. Food Chem.* 25, 434-437
- Serra, R., Abrunhosa, L., Kozakiewicz, Z. e Venâncio, A. (2003) *Int J. Food Microbiol* 88, 63-68
- Serra, R., Mendonça, C. e Venâncio, A. (2006) *Int J. Food Microbiol* no prelo
- Takahashi, D.M. (1977a) *J AOAC Int.* 60, 799-804
- Takahashi, D.M. (1977b) *J. Chromatogr.* 131, 147-156
- Zimmerli, B. e Dick, R. (1995) *J. Chromatogr. B* 666, 85-99
- Fernandes, A., Venâncio, A., Moura, J., Garrido, J. e Cerdeira A. (2003) *Aspects Appl. Biol.* 68:73-80.
- Fernandes, A., Venâncio, A. (2006) *dados não publicados*
- Ratola, N., Martins, L. e Alves, A. (2004) *Anal. Chim. Acta* 513:319-324.